

Kupriianova Larisa. Immuno-histochemical features of the structure of fetuses' ovarian from the mothers with pregnancy complications. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(11):749-759. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.275714> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/4244> <https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/793427>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.11.2016. Revised 22.11.2016. Accepted: 30.11.2016.

UDK: 618.11-053.18-091.8:618.3-06

IMMUNO-HISTOCHEMICAL FEATURES OF THE STRUCTURE OF FOETUSES' OVARIAN FROM THE MOTHERS WITH PREGNANCY COMPLICATIONS

Larisa Kupriianova

Kharkiv National Medical University, Kharkov, Ukraine

Abstract

As a material of our research, we took into account fetuses' ovarian at the gestation term from 21 to 42 weeks; and, as a result, all types of material we divided into few groups: fetuses from healthy mothers; fetuses from mothers with pre-eclampsia complications of pregnancy of different stages; fetuses from mothers with pregnancy's complications as a chronic infection. Research methods: organomethrical, histochemical, immuno-histochemical, statistical. As a result of the complex research, in fetuses' ovarian from mothers with pregnancy complications of different types, we can see reducing of indicators of structural and functional activity of organs, increasing of apoptotic index; increasing of endothelin-1 production; decreasing of hormones production.

Key words: fetus, pregnancy, pre-eclampsia; infection, ovary.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ЯЄЧНИКІВ ПЛОДІВ ВІД МАТЕРІВ З УСКЛАДНЕНОЮ ВАГІТНІСТЮ

Л. С. Купріянова

Харківський національний медичний університет

Дослідження є фрагментом комплексних науково-дослідницьких праць кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету МОЗ України «Патоморфологічні особливості формування плоду і новонародженого під впливом патології матері» (номер державної реєстрації 0110U001805, 2010-2014 рр.); «Вплив плодово-материнської інфекції на ембріогенез і фетогенез нащадків» (клініко-морфологічне дослідження) (номер державної реєстрації 0115u000987, 2015-2019 рр.), які входять до координаційного плану пріоритетних напрямів, затвердженого Міністерством охорони здоров'я України.

Проблема первинного жіночого безпліддя є провідною в структурі акушерсько-гінекологічної патології. Актуальність проблеми обумовлена не тільки зниженням демографічних показників, а і не уклінним зростанням кількості «безплідних» пар репродуктивного періоду [1]. На даному етапі розвитку медичної науки відома значна кількість факторів, які призводять до порушення гермінативної функції жіночого організму. Все частіше розглядається питання стосовно ролі спадковості в розвитку даних змін [3]. Неодноразово вчені розглядали питання про вплив екстрагенітальної патології на розвиток гермінативних порушень у дівчаток-підлітків та жінок у подальшому, які були народжені від матерів з ускладненою вагітністю [5]. Вивчено і описано зміни у внутрішніх статевих органах у дівчаток-підлітків, які були народжені від матерів з прееклампсією, хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів [6]. Але дослідження будови статевих органів плодів, як морфологічного субстрату для розвитку порушень функції жіночих статевих органів які були народжені жінками з ускладненою вагітністю проведено не було.

Мета роботи – виявити імуногістохімічні особливості будови яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом дослідження були яєчники плодів строком гестації від 21 до 42 тижнів. Загальна кількість випадків склала 190. В залежності від перебігу вагітності весь матеріал було поділено на три групи: плоди від

матерів з фізіологічною вагітністю (за даними медичної документації) (група порівняння); плоди від матерів, вагітність у яких була ускладнена прееклампсією (ПЕ) різного ступеню тяжкості (основна група 1); плоди від матерів, вагітність у яких перебігала на тлі хронічної інфекції нижніх статевих шляхів (основна група 2). Відповідно до основних етапів закладки і формування яєчників плодів весь матеріал в групах було поділено на підгрупи: від 21 до 28 тижня гестації, від 29 до 36 тижнів гестації, від 37 до 42 тижнів гестації.

Плоди досліджуваних груп загинули інтранатально або антенатально внаслідок гострого порушення матково-плацентарного кровообігу, матково-плодового кровообігу, патології пуповини, а також інших станів, пов'язаних із порушенням діяльності в органах та системах плода (серцево-легенева недостатність, поліорганна недостатність).

Методи дослідження: органоскопічний, гістологічний, імуногістохімічний, морфометричний, статистичний.

Під час аутопсії визначалось розташування яєчників, після чого органи відділяли і проводили органометрію. З кожного органу брали по три частки для подальшого дослідження. Часточки органів фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і проводили по спиртах зростаючої концентрації. Після стандартної проводки матеріал занурювали в целоїдин-парафін і використовували для виготовлення блоків. З блоків робили зрізи товщиною 3-5 мкм. Зрізи забарвлювали гістологічним методом (гематоксиліном-еозином), імуногістохімічними методами (прямий метод Кунса та пероксидазний метод з використанням МКАт до CD 34, ендотеліну-1, до CD 95, естроген - рецептора альфа (ER), (DAKO clone EP1) і прогестерон - рецептора (PR), (DAKO clone PgR 636)) [2, 4].

Гістологічне та морфометричне дослідження проводили на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus Db-soft (Version 3:1).

Статистична обробка отриманих результатів дослідження проводилась на персональному комп'ютері з використанням ліцензійного пакету програм «Statistica 6.0» («Statsoft, Inc.»).

Результати та їх обговорення. Органи плодів досліджуваних груп у всіх випадках були розташовані горизонтально поблизу до бічної стінки малого тазу. Форма яєчників варіювала від тригранної до овальної. При макроскопічному дослідженні поверхня яєчників була гладкою, тканина синювато-білуватого кольору. Розміри

правого яєчника у всіх плодів превалювали над такими у лівого. На розрізі тканина фетальних гонад була сірувато-розоватою однорідною.

При оглядовому дослідженні препаратів, забарвлених гематоксиліном-еозіном, встановлено, що будова яєчників складається з коркової та мозкової речовини, розподіл між якими чіткий у всіх випадках. Коркова речовина превалює над мозковою. У всіх випадках яєчник вкритий білковою оболонкою, структура якої представлена колагеновими волокнами. Під білковою оболонкою розташовані статеві клітини, скупчення яких приводять до формування так званих острівків. Переважна частина статевих клітин знаходиться у стані дегенеративних змін, проявами яких є: нечіткі межі ядер, відсутність ядерця, гіпохромність ядер або взагалі пікноз ядра і вакуолізація цитоплазми. Узагальнені показники кількості статевих клітин в яєчниках плодів досліджуваних груп наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Показники кількості статевих клітин в яєчниках плодів досліджуваних груп,
(екземплярів в полі зору)**

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижнів
Група порівняння	44,89±1,06	18,94±0,67	15,29±0,54
Основна група ПЕ легкого ступеню	42,64±0,39*	17,12±0,63*	13,78±0,52*
ПЕ середнього ступеню тяжкості	40,58±0,21*	17,63±0,62*	12,37±0,43*
ПЕ тяжкого ступеню	35,79±1,25*	16,42±0,57*	10,02±0,35*
Основна група 2 (інфекція)	41,02±1,43*	16,71±0,58*	11,62±0,41*

Примітка: * - <0,05 відносно до групи порівняння

Аналізуючи дані таблиці 1 можна зробити висновок, що показники кількості статевих клітин в яєчниках плодів 1 і 2 основних груп вірогідно зменшені відносно до таких показників в групі порівняння. Причому необхідно звернути увагу на те, що зменшення кількості статевих клітин в яєчниках плодів основної групи 2 найбільш проявляється при середньому та тяжкому ступеню ПЕ.

Імуногістохімічним методом з використанням МКАт до CD 95 підраховано середню кількість апоптозно змінених ооцитів, яка представлена у вигляді апоптозного індексу (процентне відношення кількості апоптозно змінених клітин відносно до загальної кількості ооцитів). Показники апоптозного індексу наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

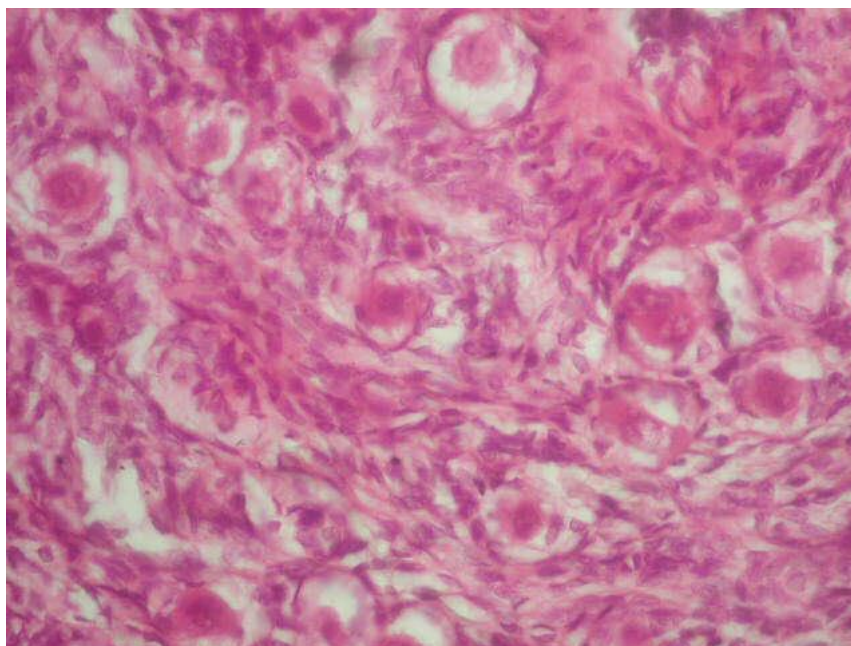
Показники апоптозного індексу в яєчниках плодів досліджуваних груп, (%)

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижнів
Група порівняння	22,72±0,80	31,64±1,12	35,30±1,23
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	24,16±0,85*	33,12±1,16*	37,15±1,30*
ПЕ середнього ступеню тяжкості	27,51±0,96*	34,76±1,22*	38,62±1,35*
ПЕ тяжкого ступеню	30,04±1,05*	35,02±1,23*	39,24±1,37*
Основна група 2 (інфекція)	29,48±1,03*	36,12±1,26*	42,74±1,51*

Примітка: * - <0,05 відносно до групи порівняння

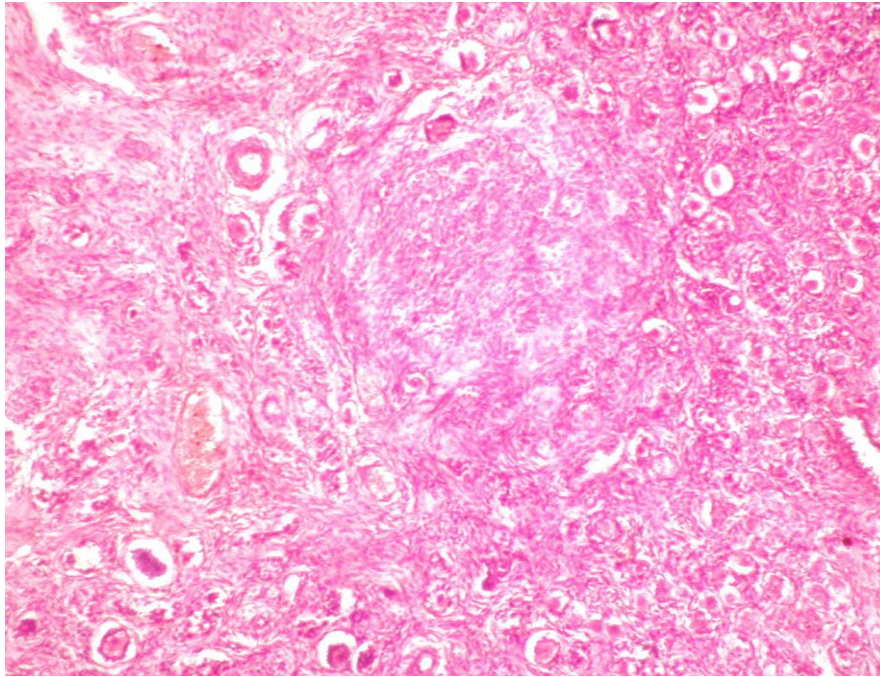
Дані таблиці 2 свідчать про вірогідне збільшення показника апоптозного індексу в яєчниках плодів основних груп 1 і 2 відносно до таких в групі порівняння. Необхідно також зробити наголос на тому, що підвищення показника апоптозного індексу в яєчниках має максимальні прояви у плодів від матерів з тяжким ступенем ПЕ та від матерів з хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів.

Коркова речовина яєчників плодів представлена фолікулами та сполучною тканиною. Під час гістологічного дослідження встановлено, що в яєчниках плодів групи порівняння мають місце головним чином примордіальні та первинні фолікули (мал. 1).



Мал. 1. Яєчник плода групи порівняння, строком гестації 29-36 тижнів. Примордіальні фолікули в корковій речовині яєчника. Забарвлення гематоксилином еозіном, x200.

В структурі коркової речовини яєчників плодів основних груп 1 і 2 з'являються зріючі, зростаючі та кістозно-атретичні фолікули (мал. 2). Наведені форми фолікулів мають місце в будові гонад плодів від матерів з ПЕ середнього та тяжкого ступеню, а також у плодів від матерів з хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів в період гестації від 29 до 36 тижнів. Описані особливості можуть свідчити про наявність ознак гіперпластичного типу будови фетальних яєчників.



Мал. 2. Яєчник плода основної групи 1, строком гестації 29-36 тижнів. Примордіальні та первинні фолікули в корковій речовині яєчника. Забарвлення гематоксиліном еозіном, x100.

Мозкова речовина органа представлена клітинним компонентом та еластичними волокнами сполучної тканини.

Судинний компонент яєчників плодів групи порівняння представлений судинами з тонкими стінками, помірного кровонаповнення. Стінки судин як коркової, так і мозкової речовини яєчників плодів основних груп 1 і 2 потовщені, містами з явищами гіалінозу. Імуногістохімічним методом з використанням МКАт до ендотеліну-1 вивчено особливості ендотелін-продукуючої активності судинного компоненту яєчників плодів досліджуваних груп. Показники інтенсивності світіння ендотеліоцитів в судинах яєчників плодів наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Показники світіння ендотеліоцитів в судинах яєчників плодів досліджуваних груп, (ум. од. св.)

Світіння в судинах венозного типу – верхня строка

Світіння в судинах артеріального типу – нижня строка

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижнів
Група порівняння	0,64±0,02 0,32±0,01	0,67±0,02 0,38±0,01	0,67±0,02 0,39±0,01
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	1,42±0,05* 0,92±0,03**	1,45±0,05* 0,94±0,03**	1,46±0,05* 0,97±0,03**
ПЕ середнього ступеню тяжкості	1,51±0,05* 1,10±0,04**	1,64±0,06* 1,23±0,04**	1,73±0,06* 1,38±0,06**
ПЕ тяжкого ступеню	1,54±0,05* 1,13±0,04**	1,74±0,06* 1,28±0,04**	1,92±0,07* 1,42±0,05**
Основна група 2 (інфекція)	1,24±0,04* 0,81±0,03**	0,93±0,03* 0,84±0,03**	1,08±0,04* 0,91±0,03**

Примітка: * - <0,05 відносно до групи порівняння (світіння в судинах венозного типу)

Примітка: ** - <0,05 відносно до групи порівняння (світіння в судинах артеріального типу)

Аналізуючи дані таблиці 3 можна зробити висновки, що інтенсивність світіння ендотеліну-1 в судинному компоненті яєчників підвищена в органах плодів основних груп 1 і 2. Найбільш виразні зміни показників світіння мають місце в гонадах плодів від матерів з ПЕ середнього ступеню та тяжкою ПЕ.

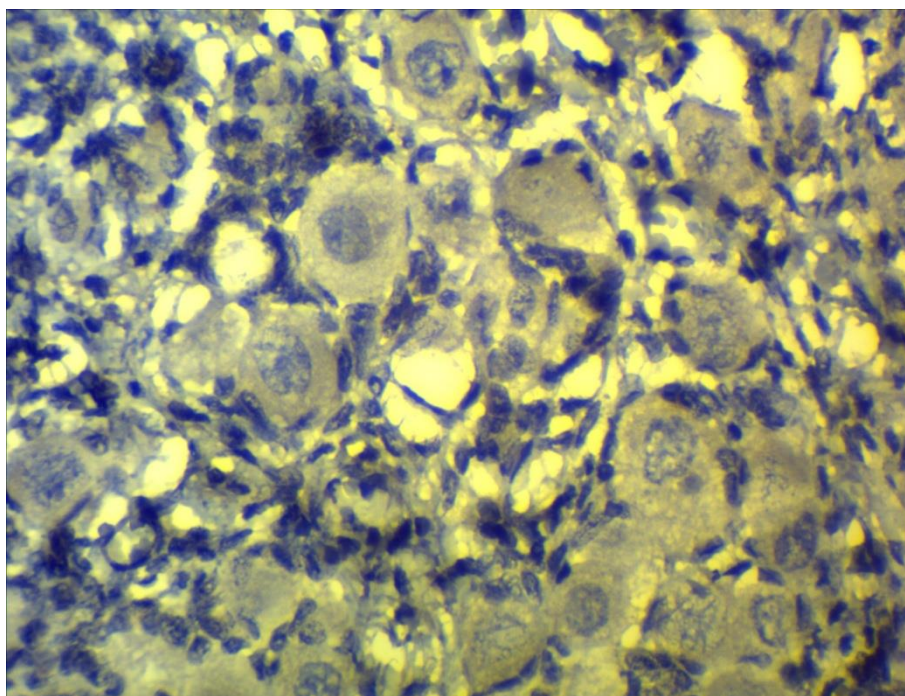
Вивчено особливості гормон-продукуючої активності яєчників плодів досліджуваних груп (мал. 3, 4). Причому оцінено як інтенсивність реакції, так і процентне відношення клітин, які експресують поверхневі рецептори до естрогену та прогестерону.

Показники гормональної активності яєчників плодів досліджуваних груп представлено в таблиці 4.

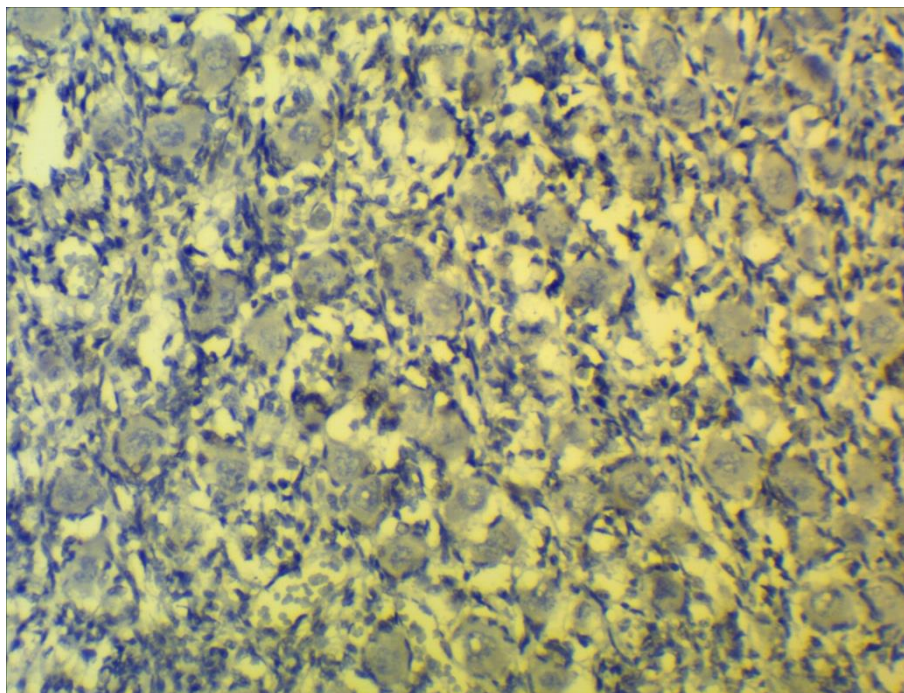
Проводячи узагальнення результатів, викладених в таблиці 4, можна сказати, що естроген-продукуюча активність яєчників плодів основних груп 1 і 2 знижена по відношенню до такої в органах плодів від матерів з фізіологічною вагітністю. Прогестерон - продукуюча активність в яєчниках плодів від матерів з ускладненою вагітністю відсутня взагалі.

Показники гормональної активності яєчників плодів досліджуваних груп

Група	21-28 тижнів		29-36 тижнів		37-42 тижнів	
	естроген	прогестерон	естроген	прогестерон	естроген	прогестерон
Група порівняння	слабка ++ 80 %	негативна	слабка ++ 85 %	негативна	слабка ++ 90 %	слабка ++ 75 %
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	слабка + 50 %	негативна	слабка + 45 %	негативна	негативна	негативна
ПЕ середнього ступеню тяжкості	слабка + 35 %	негативна	слабка + 30 %	негативна	негативна	негативна
ПЕ тяжкого ступеню	слабка + 30 %	негативна	слабка + 25 %	негативна	негативна	негативна
Основна група 2 (інфекція)	слабка + 65 %	негативна	слабка + 50 %	негативна	Слабка + 35 %	негативна



Мал. 3. Яєчник плода групи порівняння строком гестації 29-36 тижнів. Імуногістохімічний метод з використанням МКАт до естрогену, x400.



Мал. 4. Яєчник плода групи порівняння строком гестації 29-36 тижнів. Імуногістохімічний метод з використанням МКАт до прогестерону, x200.

Таким чином, в результаті комплексного імуногістохімічного дослідження встановлено особливості будови яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю. А саме: в яєчниках плодів від матерів з ускладненою вагітністю (ПЕ різного ступеню тяжкості, хронічна інфекція нижніх статевих шляхів) порівняно з будовою яєчників плодів від матерів з фізіологічною вагітністю спостерігається підвищення показників апоптозного індексу серед статевих клітин; підвищення ендотелію - продукуючої функції судинами як артеріального, так і венозного типів; зниження інтенсивності реакції і кількості клітин з поверхневими рецепторами при обробці препаратів МКАт до естрогену; відсутність реакції при обробці препаратів МКАт до прогестерону. Причому необхідно відмітити, що ступінь виразності вищевказаних змін в основній групі 2 знаходиться в прямій залежності від ступеню тяжкості ПЕ матері. Встановлені імуногістохімічні особливості будови яєчників можуть у подальшому сприяти порушенню гермінативної функції у дівчаток-підлітків та жінок, які народились від матерів з ускладненою вагітністю [7, 8, 9, 10, 11].

Висновки

1. У плодів від матерів з ускладненою вагітністю відмічається підвищення показника апоптозного індексу в популяції статевих клітин.

2. В судинному компоненті яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю спостерігається підвищення ендотелін - продукуючої активності в судинах як артеріального, так і венозного типів. Підвищення активності ендотеліоцитів може бути пов'язано зі збільшенням кількості судин в фетальних органах при даній патології вагітності і призвести у подальшому до порушення дозрівання і функціональної активності яєчників.

3. Гормон – продукуюча активність яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю характеризується зниженням інтенсивності реакції і кількості клітин, що експресують поверхневі рецептори до естрогену. Прогестерон – продукуюча активність в яєчниках плодів з ускладненою вагітністю відсутня.

4. Ступінь проявів виявлених імуногістохімічних особливостей в яєчниках плодів від матерів з ПЕ залежить від ступеню тяжкості ускладнення вагітності.

5. Встановлені імуногістохімічні особливості будови яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю можуть сприяти у подальшому порушення гермінативної функції жіночого організму, навіть бути провідною ланкою в розвитку первинного безпліддя у жінок.

References

1. Pietro Di M. Metformin regulates ovarian angiogenesis and follicular development in a female polycystic ovary syndrome rat model / Pietro Di M., F. Parborell [et al.] // *Endocrinology*. – 2015. – № 156. – P. 1453-63.
2. Roberts D. K. The role of sex steroid receptors in obstetrics and gynecology // D. K. Roberts, M. Van Sickle [et al.] // *Obstet. Gynecol. Annu.* – 1983. – № 12. – P. 61-78.
3. Vidal L. B. Maternal and perinatal outcomes of pregnant women with normal deliveries and preeclampsia / L. B. Vidal, de Oliveira Gomes G [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2015. – № 5. – P. 76-7.
4. Viehweg B. Histochemical studies on female genital organs during fetal development. VI. Protein histochemistry of the uterine tubes // B. Viehweg, K. E. Ruckhäberle, C. Wolff // *Gegenbaurs. Morphol. Jahrb.* – 1972. – № 117. – P. 489-95.
5. Williams E. J. Viral infections: contributions to late fetal death, stillbirth, and infant death / E. J. Williams, N. D. Embleton [et al.] // *Pediatr.* – 2013. – № 163. – P. 424-8.
6. Xiao S. Evidence for decreased expression of ADAMTS-1 associated with impaired oocyte quality in PCOS patients / S Xiao, Y. Li [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – № 99. – P. 1015-21.

7. Yin J. Antisense oligodeoxynucleotide against tissue factor inhibits human umbilical vein endothelial cells injury induced by anoxia-reoxygenation / J. Yin, X. G. Luo, W. J. Yu [et al.] // *Cell. Physiol Biochem.* – 2010. – № 25(4-5). – P. 477-90.
8. Ylikorkala O. The role of prostaglandins in obstetrical disorders / O. Ylikorkala, L. Viinikka // *Baillieres. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 1992. – № 6(4). – P. 809-27.
9. Yong H.E. Anti-angiogenic collagen fragment arresten is significantly increased from 16 weeks in preeclamptic plasma and correlates with preeclamptic disease severity / H. E.Yong, P. Murthi, M. H. [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2015. – № 5. – P. 42.
10. Zaburzenia hormonalne u dzieci i młodzieży : praca zbiorowa / pod red. Tomasza E. Romera. – Warszawa : Split. Trading, 1995. – 488 s.
11. Zaburzenia i deficyty rozwojowe u dzieci i młodzieży / pod red. Stanisława Lipińskiego, Grażyny Zarębskiej; Kolegium Nauczycielskie w Zgierzu. – Zgierz : Wydawnictwo Naukowe: Kolegium Nauczycielskie, 2012. – 351 s.